



AUSLEGESCHRIFT

1 226 745

Deutsche Kl.: 30 i - 3

Nummer: 1 226 745

Aktenzeichen: H 45531 IV a/30 i

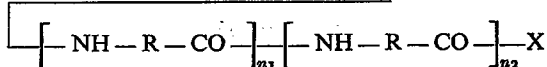
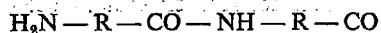
Anmeldetag: 19. April 1962

Auslegungstag: 13. Oktober 1966

1

Gegen den mikrobiellen Verderb finden in der Lebensmittelkonservierung verschiedene chemische Stoffe, wie z. B. Benzoesäure und deren Salze, Sorbinsäure und deren Salze und Hexamethylentetramin, ausgedehnte Anwendung. Da diese Stoffe mit der Nahrung in den Organismus gelangen und sich dort anreichern können, ohne daß man ausreichende Kenntnisse der möglichen toxischen Wirkungen besitzt, erweckt deren Anwendung zur Lebensmittelkonservierung Bedenken. Es sind auch hochmolekulare Konservierungsmittel bekanntgeworden, die praktisch untoxisch sind. Derartige Konservierungsmittel haben jedoch den Nachteil, daß sie nicht breit genug wirksam sind, d. h. nicht eine genügend große Zahl von verschiedenen Mikroorganismen am Wachstum verhindern können. Außerdem besitzen sie die üblichen Nachteile hochmolekularer Substanzen, indem sie schwer löslich und schwierig zu reinigen sind.

Diese Nachteile werden durch das erfindungsgemäße Konservierungs- und Desinfektionsmittel beseitigt. Dieses ist dadurch gekennzeichnet, daß es ein Peptid der allgemeinen Formel



worin n_1 und n_2 für 0 oder 1 stehen, X eine Hydroxy-, Alkoxy-, Amino-, Monoalkylamino-, Dialkylamino- oder Hydrazinogruppe darstellt und die Symbole R je einen von der α -Amino- und der Carboxylgruppe befreiten Rest einer α -Aminocarbonsäure bedeutet, wobei mindestens einer der R-Reste eine Aminogruppe enthält und wobei mindestens eine Aminogruppe des Moleküls einen Acylrest einer langkettigen gesättigten oder ungesättigten aliphatischen Carbonsäure trägt oder das Symbol X einen Monoalkyl- oder Dialkylaminorest mit einem langkettigen Alkylsubstituenten bedeutet oder ein Säureadditionssalz davon enthält.

Wie ersichtlich, umfaßt die vorstehende Formel Di-, Tri- und Tetrapeptide, die sich von α -Aminocarbonsäuren, wie Serin, Phenylalanin, Tyrosin, Leucin, ableiten. Mindestens eine der Aminosäuren im Molekül muß basisch sein, wie Lysin, Arginin, Ornithin, α, γ -Diaminobuttersäure, α, β -Diaminopropionsäure. Die durch die Symbole R dargestellten Reste können sich von gleichen oder verschiedenartigen α -Aminocarbonsäuren ableiten. Im Molekül muß mindestens ein langkettiger Rest vorhanden sein. Vor allem aus ökonomischen Gründen ist es zweckmäßig, daß nur ein derartiger langkettiger N-Acyl- oder N-Alkylrest im

Konservierungs- und Desinfektionsmittel

Anmelder:

F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft, Basel (Schweiz)

Vertreter: Dr. Dr. J. Rüttel, Dr. Ing. N. B. Rüttel, Dr. G. Schmitt, Rechtsanwalt, Lörrach (Bad.), Friedrichstr. 3



Als Erfinder benannt:

Dr. Urs Gloor, Riehen;
Dr. Rolf Studer, Neuallschwil;
Dr. Peter Quitt, Basel;
Dr. Karl Vogler, Riehen (Schweiz)

Beanspruchte Priorität:

Schweiz vom 1. Juni 1961 (6366),
vom 1. Dezember 1961 (13 988)

2

Molekül vorhanden ist. Aus denselben Gründen ist es von Vorteil, wenn ein Dipeptid und als Aminosäure Lysin Verwendung findet. Die langkettigen Acyl- und Alkylreste weisen mindestens 10, insbesondere 10 bis 20 Kohlenstoffatome auf, wie z. B. der Undecenyl-, Lauryl-, Palmitoyl- oder Stearylrest.

Damit beim fermentativen Abbau essentielle Abbauprodukte entstehen, ist es notwendig, daß das verwendete Peptid aus L-Aminosäuren aufgebaut ist.

Besonders bevorzugte Verbindungen sind z. B. die folgenden: N^{*}-Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin, L-Lysyl-N^{*}-palmitoyl-L-lysin, N-Palmitoyl-L- α, γ -diaminobutyryl-L- α, γ -diaminobuttersäure, L- α, γ -Diaminobutyryl-L-N^{*}-palmitoyl-L- α, γ -diaminobuttersäure, N^{*}-Palmitoyl-L-ornithyl-L-arginin, N^{*}-Palmitoyl-L-ornithyl-L-ornithin, N^{*}-Palmitoyl-L-arginyl-L-arginin und Ester, Amide und Hydrazide dieser Verbindungen.

Die Peptide der vorliegenden Erfindung zeichnen sich durch eine ausgezeichnete, breite Wirksamkeit sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative pathogene und apathogene Bakterien sowie gegen Pilze, Algen und Hefen aus. Die Verbindungen sind andererseits sehr wenig toxisch, denn sie zersetzen sich unter der Einwirkung proteolytischer Enzyme, wobei essentielle Aminosäure oder diesen sehr nahe-stehende Produkte gebildet werden, die keinerlei anti-

28 Orangen wurden mit je zehn Nadelstichen verletzt, um das Eindringen von Mikroorganismen zu erleichtern. Anschließend wurden je sieben Orangen

während 1 Minute in eine der drei folgenden Lösungen getaucht:

1. Wasser + 1% Polyoxyäthylensorbitanmonooleat,
2. Wasser + 1% Polyoxyäthylensorbitanmonooleat + 0,1 % N^α-Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin-äthylesterdihydrochlorid,
3. Wasser + 1% Polyoxyäthylensorbitanmonooleat + 1% N^α-Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin-äthylesterdihydrochlorid.

Nach dem Abtropfen wurden die 21 Orangen gleichmäßig mit einer Suspension von Sporen besprüht, die von einer schimmelig gewordenen Orange stammten. Die Orangen wurden dann gruppenweise in mit 5 Wasser angefeuchtetes Papier eingewickelt. Die restlichen sieben Orangen wurden mit obiger Lösung Nr. 1 behandelt und in Papier eingewickelt, das an Stelle von Wasser mit der obigen Lösung Nr. 3 angefeuchtet worden war. Die Früchte wurden bei Zimmertemperatur gelagert und durch Einhüllen mit Kunststoff-Folie am Austrocknen gehindert. Die Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle festgehalten:

Tage nach Versuchsbeginn	Gruppe I Früchte mit Lösung 1 behandelt; Papier, Wasser	Gruppe II Früchte mit Lösung 2 behandelt; Papier, Wasser	Gruppe III Früchte mit Lösung 3 behandelt; Papier, Wasser	Gruppe IV Früchte mit Lösung 1 behandelt; Papier, Lösung 3
0	—	—	—	—
3	4 +	1 +	2 ++	—
4	4 ++; 2 +	2 ++; 2 +	3 ++; 2 +	1 +
5	6 ++; 1 +	3 ++; 2 +	3 ++; 2 +	2 +
6	7 ++	4 ++; 3 +	5 ++; 2 +	1 ++; 1 +
10	7 ++	7 ++	7 ++	3 ++; 1 +

Die Ziffern bedeuten die Anzahl der befallenen Orangen.

+ = Wenig Schimmel.

++ = Viel Schimmel.

Beispiel 5

100 g 50%iger Äthylalkohol werden mit 1 g Panthenol und 0,001 g N^α-Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin-äthylesterdihydrochlorid versetzt. Man erhält ein Haarwasser mit besonders guter desinfizierender Wirkung.

Beispiel 6

100 g 50%iger Äthylalkohol werden mit 0,05 g Panthenol und 0,05 g N^α-Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin-äthylesterdihydrochlorid versetzt. Man erhält ein Rasierwasser mit sehr guten desinfizierenden Eigenschaften.

Beispiel 7

19 ml weißer Traubensaft wurden jeweils in einem 50-ml-Erlenmeyerkolben mit je 1 ml einer konzentrierten Lösung des angegebenen Konservierungsmittels versetzt, so daß die Endkonzentration die in der Tabelle angegebenen Werte erreichte. Um die Gärung zu erleichtern, wurde pro Gefäß 0,1 ml einer 10%igen Bäckerhefesuspension in Wasser zugegeben (d. h. 10 mg Hefe pro Ansatz). Die Gärung wurde nach Lagerung bei Raumtemperatur (etwa 20°C) nach 1, 2, 3 und 4 Tagen bewertet.

Konservierendes Mittel	Tage	Endkonzentration des Konservierungsmittels in %			
		0,05	0,01	0,005	0,001
N ^α -Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin-amid-dihydrochlorid	1	—	—	+	+
	2	—	—	+	++
	3	—	+	++	++
	4	—	+++	+++	+++
N ^α -Palmitoyl-L-ornithyl-L-arginin-methylesterdihydrochlorid	1	—	—	+	+
	2	—	+	++	++
	3	—	++	+++	+++
	4	—	+++	+++	+++
N ^α -Palmitoyl-L-ornithyl-L-ornithin-methylesterdihydrochlorid	1	—	—	+	+
	2	—	+	++	++
	3	—	+	++	+++
	4	—	++	+++	+++
N ^α -Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin-äthylesterdihydrochlorid	1	—	—	—	+
	2	—	—	+	++
	3	—	—	++	++
	4	—	+	+++	+++
L-Lysyl-L-lysin-hexadecylamid-trihydrochlorid	1	—	—	—	+
	2	—	—	+	++
	3	—	+	+	+++
	4	—	+	++	+++
N ^α -Palmitoyl-L-lysyl-L-leucin-methylesterhydrochlorid	1	—	—	—	—
	2	—	—	—	—
	3	—	—	—	+
	4	—	—	+	++

Kontrollansätze	Tage	Erster Ansatz	Zweiter Ansatz
Zwei Kontrollansätze mit Zusatz von 1 ml destilliertem Wasser und 0,1 ml Hefesuspension	1	+	+
	2	+++	+++
	3	+++	+++
	4	+++	+++

Legende: — = keine Gärung ++ = starke Gärung
 + = schwache Gärung +++ = sehr starke Gärung

Beispiel 8

19 ml frisch gepresster Orangensaft wurden in einem 50-ml-Erlenmeyerkolben jeweils mit je 1 ml einer konzentrierten Lösung des angegebenen Konser-

vierungsmittels versetzt, so daß die Endkonzentration die in der Tabelle angegebenen Werte erreichte. Die Schimmelbildung wurde nach der Lagerung bei Raumtemperatur (etwa 20°C) nach 2, 3, 7 und 9 Tagen bewertet.

Konservierende Mittel	Tage	Endkonzentration des Konservierungsmittels in %			
		0,05	0,01	0,005	0,001
N ^α -Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin-amid-dihydrochlorid	3	—	—	—	—
	5	—	—	—	—
	7	—	—	—	+
	9	—	+	++	+++
N ^α -Palmitoyl-L-ornithyl-L-arginin-methylester-dihydrochlorid	3	—	—	+	+
	5	—	—	+	++
	7	—	+	++	+++
	9	+	++	+++	+++
N ^α -Palmitoyl-L-ornithyl-L-ornithin-methylester-dihydrochlorid	3	—	—	—	+
	5	—	—	+	++
	7	—	—	+	++
	9	+	+	++	+++
N ^α -Palmitoyl-L-lysyl-L-lysin-äthylester-dihydrochlorid	3	—	—	—	—
	5	—	—	—	—
	7	—	—	—	—
	9	—	—	+	++
L-Lysyl-L-lysin-hexadecylamid-trihydrochlorid	3	—	—	+	+
	5	—	—	+	+
	7	—	+	++	++
	9	—	++	+++	+++
N ^α -Palmitoyl-L-lysyl-L-leucin-methylesterhydrochlorid	3	—	+	+	+
	5	—	+	+	++
	7	—	+	++	+++
	9	+	++	+++	+++

Kontrollansätze	Tage	Erster Ansatz	Zweiter Ansatz
Zwei Kontrollansätze mit Zusatz von 1 ml destilliertem Wasser	3	—	+
	5	+	++
	7	++	+++
	9	+++	+++

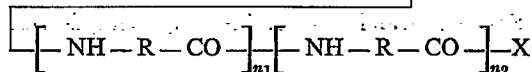
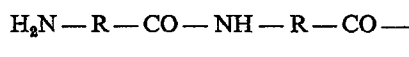
Legende: — = keine Schimmelbildung.
 + = wenig Schimmel (bis etwa 10% der Oberfläche bedeckend).
 ++ = viel Schimmel (etwa 50% der Oberfläche bedeckend).
 +++ = sehr viel Schimmel (100% der Oberfläche bedeckend).

Die Zulässigkeit der erfindungsgemäßen Verwendung der Peptide zur Konservierung von Lebensmitteln, die für den Verbrauch im Inland bestimmt sind, richtet sich nach den Lebensmittelgesetzen.

Patentansprüche:

1. Konservierungs- und Desinfektionsmittel, dadurch gekennzeichnet, daß es ein

Peptid der allgemeinen Formel



worin n_1 und n_2 für 0 oder 1 stehen, X eine Hy-

droxy-, Alkoxy-, Amino-, Monoalkylamino-, Dialkylamino- oder Hydrazinogruppe darstellt und die Symbole R je einen von der α -Amino- und der Carboxylgruppe befreiten Rest einer α -Aminocarbonsäure bedeutet, wobei mindestens einer der R-Reste eine Aminogruppe enthält und wobei mindestens eine Aminogruppe des Moleküls einen Acylrest einer langkettigen gesättigten oder ungesättigten aliphatischen Carbonsäure von mindestens 10 Kohlenstoffatomen trägt oder das Symbol X einen Monoalkyl- oder Dialkylaminorest mit einem langkettigen Alkylsubstituenten mit mindestens 10 Kohlenstoffatomen bedeutet, oder ein Säureadditionssalz davon enthält.

2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es ein Dipeptid enthält.

3. Mittel nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die langkettigen Acyl- und Alkylreste insbesondere 10 bis 20 Kohlenstoffatome aufweisen.

4. Mittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Peptid nur einen langkettigen N-Acyl- oder N-Alkylrest enthält.

5. Mittel, nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Aminosäuren optisch aktiv sind und insbesondere L- α -Konfiguration aufweisen.

6. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Peptid D- oder L- oder D,L-Lysin enthält.

7. Mittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man N^{*}-Palmitoyl-L-Lysyl-L-lysin oder dessen Ester, Amid oder Hydrazid verwendet.

8. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß man L-Lysyl-N^{*}-palmitoyl-L-lysin oder dessen Ester, Amid oder Hydrazid verwendet.

9. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man N^{*}-Palmitoyl-L- α,γ -diaminobutyryl-L- α,γ -diaminobuttersäure oder deren Ester, Amid oder Hydrazid verwendet.

10. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man L- α,γ -Diaminobutyryl-L-N^{*}-palmitoyl-L- α,γ -diaminobuttersäure oder deren Ester, Amid oder Hydrazid verwendet.

11. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man N^{*}-Palmitoyl-L-ornithyl-L-arginin oder dessen Ester, Amid oder Hydrazid verwendet.

12. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man N^{*}-Palmitoyl-L-ornithyl-L-ornithin oder dessen Ester, Amid oder Hydrazid verwendet.

13. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man N^{*}-Palmitoyl-L-arginyl-L-arginin oder dessen Ester, Amid oder Hydrazid verwendet.

14. Mittel nach einem der Ansprüche 8 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß man den Methyl- oder Äthylester verwendet.

In Betracht gezogene Druckschriften:

deutsche Patentschriften Nr. 856 042, 862 477, 884 991;

deutsche Auslegeschrift Nr. 1 041 627;

USA.-Patentschrift Nr. 2 689 170;

Journal of Dental Research, 1953, S. 94;

Chemical Abstracts, Vol. 44, S. 1564 h und 1565 i.